

ÉTUDE SUR LA SUCCESSION D'ESPÈCES PHYTOPLANCTONIQUES MARINES EN BASSINS DE CULTURE EXTÉRIEURS

I. DAVRINCHE, F. AUSCHER et J. COSSON

Laboratoire d'Algologie fondamentale et appliquée,
Université de Caen, 39 rue Desmoueux, 14000 Caen,
France.

RÉSUMÉ - Le développement de populations phytoplanctoniques naturelles d'origine marine en bassins de culture extérieurs a été suivi sur une période de deux ans. L'enrichissement en sels nutritifs (azote, phosphore et silice) oriente les cultures vers la production de Diatomophycées. Le maintien de ces apports à des concentrations non limitantes, ainsi que l'homogénéisation du milieu empêchant les phénomènes de stratification, permettent de limiter l'influence des facteurs environnementaux aux éléments climatiques. Les rôles respectifs de la température et de l'éclairement sont observés. Le suivi parallèle des développements phytoplanctoniques en mer apporte une information complémentaire concernant la succession des espèces dans les cultures.

ABSTRACT - Growth of marine phytoplanktonic populations from natural origin was studied during two years in outdoor cultures. Enrichment with nitrogen, phosphorus and silicon leads to a diatom production. Respective roles of temperature and solar radiations are clearly observed since nutrient concentrations were never limiting and stratification avoided due to culture homogenisation. Parallel observations of phytoplanktonic blooms in the sea bring further information on species successions in cultures.

MOTS CLÉS : cultures, Diatomophycées, température, rayonnement, successions phytoplanctoniques.

INTRODUCTION

Les cultures en masse de microalgues marines sont étudiées depuis de nombreuses années à des fins d'utilisation aquacole dans la nutrition de bivalves marins (Persoone & Claus, 1980) ou de production de molécules organiques (colorants, acides gras, vitamines - Aaronson *et al.*, 1980).

Pour des raisons économiques évidentes (structures, emplacement, énergies lumineuse et thermique) elles se font le plus souvent en milieu extérieur, étant ainsi soumises aux variations des facteurs climatiques. Il n'est donc pas possible, la plupart du temps (sauf dans des conditions de

température ou de salinité particulièrement favorables à une espèce donnée comme *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco, d'envisager la culture en continu d'une espèce unique tout au long de l'année.

Ainsi différents auteurs travaillant sous climat tempéré ont observé des successions d'espèces: De Pauw *et al.* (1983) ont obtenu, en bassins de culture de 100m³ (100m² x 1m) et de 50m³ (100m² x 0,5m), les blooms successifs de six espèces de Diatomophycées sur un cycle annuel; Riva & Lelong (1981) ont également mis en évidence le développement de cinq à six espèces dans des bacs de 33m³ (18m² x 1,85m), sur une durée de dix mois. Seuls Goldman & Mann (1980) ont clairement établi un modèle saisonnier répétitif de succession des espèces en culture de 13,5m² (15m² x \approx 1m), avec la dominance de *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve à des températures inférieures à 10°C, remplacée par *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin entre 10°C et 23°C.

Il nous est par conséquent apparu indispensable, par rapport aux activités aquacoles de la région Bas-Normande et en préalable à une production en masse de microalgues marines, d'établir la liste des espèces susceptibles de se développer en bassins et d'étudier leur ordre de succession en fonction des caractères écophysologiques du milieu, ainsi que l'éventuelle reproductibilité de ces cultures.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences ont été menées en 1987 et 1988 à la station de Biologie marine de Luc-sur-mer (Calvados - France).

Les cultures sont effectuées dans des bassins d'un volume de 1,9m³ (3,2m² x 0,6m de profondeur) situés en extérieur et bénéficiant d'une exposition plein sud. Elles sont soumises aux variations des conditions climatiques: température, insolation, pluviométrie.

Afin d'éliminer les particules de sable en suspension qui rendent l'eau pompée dans la zone littorale de Luc-sur-mer particulièrement turbide, cette dernière est préalablement filtrée sur mousse de polyester puis stockée dans un réservoir de décantation avant d'être distribuée dans les bassins de culture. L'eau alimentant les cultures est constituée d'un mélange de 3/4 d'eau de mer ainsi traitée et 1/4 d'eau de mer non filtrée; ce mélange permet d'apporter une partie des espèces phytoplanctoniques des eaux littorales qui auraient été retenues au niveau des filtres en raison de leur taille.

L'eau est enrichie en sels nutritifs: azote et phosphore à partir d'engrais agricoles (nitrate d'ammonium à 33% d'azote et superphosphates à 45% de P₂O₅), silice sous forme de métasilicate de sodium liquide. Les apports en sels minéraux sont effectués à la suite des dosages de façon à réajuster le rapport N/Si/P = 10/10/1 (moles) choisi pour les cultures. Le rapport N/Si = 1 (moles) est celui préconisé pour la majorité des diatomées (Officer & Ryther, 1980). Le rapport N/P = 10/1 (moles) est celui qu'emploient différents auteurs comme Guérin-Ancey *et al.* (1978), testant divers engrais agricoles, ou Cosson (1987), dans la confection de milieux de culture.

Aération et homogénéisation des cultures sont assurées par un système d'exhausteurs.

Le suivi des cultures est effectué tous les deux jours par une série de mesures à deux niveaux:

Niveau physico-chimique

Les concentrations en sels nutritifs (NO_3^- , NO_2^- et NH_4^+ pour l'azote inorganique, SiO_2 pour la silice et PO_4^{3-} pour le phosphore) sont dosées par des méthodes colorimétriques utilisant les kits Spectroquant Merck. Ces derniers, prévus pour une utilisation en eaux douces, deviennent moins précis en eau de mer en raison de la présence, en grandes quantités, de certains ions comme le chlore. Nous avons donc été amenés à diluer l'eau prélevée afin de réduire la part d'incertitude qu'apporte ce phénomène dans nos mesures. Par ailleurs, l'utilisation de ces kits se justifie dans la mesure où les dosages pratiqués sont destinés à une évaluation rapide des variations des différents éléments afin qu'ils ne constituent pas un facteur limitant.

La pression partielle en oxygène et le pH des cultures sont mesurés *in situ*; la température est enregistrée en continu par une sonde thermique immergée. Le rayonnement global en intensité et en durée est fourni par la météorologie nationale (station de Carpiquet).

Niveau biologique

L'observation des espèces au microscope optique est d'abord effectuée sur le vivant. Puis une partie du prélèvement est fixée par le Lugol et utilisée pour la détermination des espèces (microscope optique à contraste interférentiel et microscopie électronique dans quelques cas délicats) et leur comptage à l'aide d'un hématimètre de Malassez, de façon à déterminer les concentrations cellulaires des cultures.

Un renouvellement partiel du milieu est opéré dans le seul but de maintenir la culture en phase stationnaire et d'éviter son effondrement rapide lorsque la densité algale limite la pénétration de la lumière (self-shading). A la fin d'une expérience, dont la durée varie de 1 à 3 mois, les bassins sont entièrement vidés et nettoyés avant d'être remis en eau.

RÉSULTATS

Evolution des densités cellulaires

Tout au long de ces deux années d'expérience les cultures sont caractérisées par la dominance des populations de Diatomophycées par rapport aux espèces flagellées également présentes, avec cependant quelques variations. En effet, alors que de janvier à septembre les proportions de diatomées restent constamment supérieures à 90% du nombre total de cellules algales, elles se situent entre 55% et 63% seulement d'octobre à décembre (figure 1).

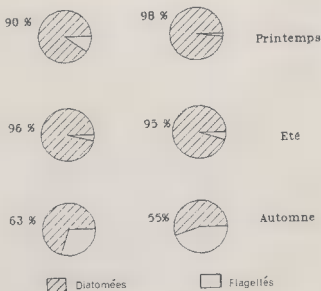


Figure 1 - Pourcentages de diatomées et de phytoflagellés dans les cultures en fonction des saisons.

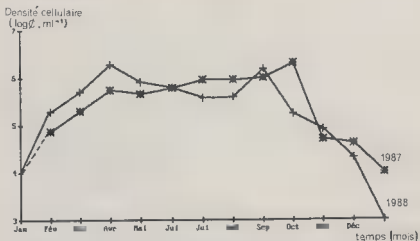


Figure 2 - Evolution de la biomasse des diatomées pour les années 1987 et 1988.

Cette variation est liée à l'évolution de la biomasse des diatomées au cours du temps, celle des flagellés évoluant peu. Les densités cellulaires (exprimées en nombre de cellules par ml.) des populations de diatomées sont en effet minimales en décembre, avec une concentration cellulaire

moyenne de 10^3 cellules.ml⁻¹, et maximales au printemps et en été, avec une concentration cellulaire moyenne de 10^6 cellules.ml⁻¹ (figure 2).

Cette évolution est identique pour les deux années, à quelques différences près: la quantité de cellules obtenue lors du bloom printannier de mars 88 est trois fois plus grande que celle estimée en mars 87; par ailleurs les biomasses estivales maximales sont décalées d'un mois en 1987 et 1988 (figure 2).

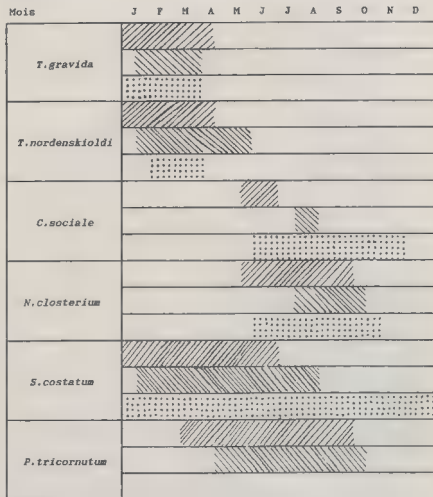


Figure 3 - Calendrier de succession des espèces dans le temps pendant les années 1987 et 1988. (Présence des espèces . . . en mer, /// dans les bassins en 1987, \\\ dans les bassins en 1988).

Evolution de la composition spécifique

Au sein des Diatomophycées on constate la dominance (considérée comme telle lorsqu'une espèce représente 80% et plus de la population algale) de six espèces qui se succèdent dans les bassins de culture suivant le même ordre au cours des deux années d'expérimentation (figure 3).

Thalassiosira gravida Cleve et *Thalassiosira nordenskioldii* Cleve, présentes respectivement de janvier à mars et de février à mars, sont à l'origine des blooms printaniers d'hiver et de début de printemps. *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, présente de novembre à juillet, est responsable des blooms obtenus de mars à juin 87 et même dès le mois de février en 88, en association avec *Thalassiosira gravida* puis *Thalassiosira nordenskioldii*.

Chaetoceros sociale Lauder qui apparaît en juin est responsable des floraisons importantes mais de très courte durée (48 à 72 heures) notées à la fin du printemps puis laisse la place à *Nitzschia closterium* (Ehrenberg) W. Smith.

Cette dernière domine dans les cultures pendant toute la période estivale avec une biomasse maximale en septembre 87 décalée au mois d'août en 88, où elle est associée à *Phaeodactylum tricornutum*, présente de mars à octobre, avec des biomasses importantes (de l'ordre de 10^5 cellules.ml⁻¹) en juillet et août seulement.

Des récoltes hebdomadaires de phytoplancton effectuées dans les eaux littorales de Luc-sur-mer au cours de ces deux années ont permis d'associer

	1	2	3
<i>Actinoptychus undulatus</i> Kützing	+		
<i>Asterionella glacialis</i> Castracane	+		
<i>Bidulphia aurita</i> (Lyngbye) de Brébisson	+	+	
<i>Coscinodiscus radiatus</i> Ehrenberg	+	+	
<i>Coscinodiscus curvatulus</i> Grunow in Schmidt	+	+	
<i>Coscinodiscus walesii</i> Gran et Anger	++	+	
<i>Ditylum brightwellii</i> (T. West) Grunow	+	+	
<i>Eucampia zodiacus</i> Ehrenberg	+		
<i>Grammatophora serpentina</i> Ehrenberg	+		
<i>Melosira nummuloïdes</i> Agardh	+	+	
<i>Melosira sulcata</i> (Ehrenberg) Kützing	+	+	
<i>Plagiogramma brockmanni</i> Hustedt	+		
<i>Pleurosigma</i> sp.	+		
<i>Thalassionema nitzschoïdes</i> Hustedt	+	+	
<i>Thalassiosira gravida</i> Cleve	+	++	+
<i>Thalassiosira nordenskioldii</i> Cleve	++	++	++
<i>Skeletonema costatum</i> (Greville) Cleve	+	+	++

Tableau 1 - Principales espèces de Diatomophycées présentes dans les eaux côtières de Luc-sur-mer et dans les bassins de culture aux mois de mars 1987 et 1988. (Colonne 1: espèces présentes dans les eaux de la frange littorale à moins d'1 km du rivage; colonne 2: espèces présentes dans les bassins en début d'expérience; colonne 3: espèces qui se développent dans les bassins. - + + nombreux individus; + quelques individus).

à ce calendrier de succession des espèces en bassins celui de ces mêmes espèces observées en mer (figure 3). Nous notons que l'ordre de succession est identique en mer et dans les bassins, en 87 et en 88. Cependant, comme le montre le tableau I sur l'exemple des mois de mars 1987 et 88, on constate qu'un certain nombre d'espèces présentes en faibles quantités dans les eaux littorales ne sont pas retrouvées dans les bassins. D'autre part, parmi celles qui figurent dans les cultures en début d'expérience, un grand nombre

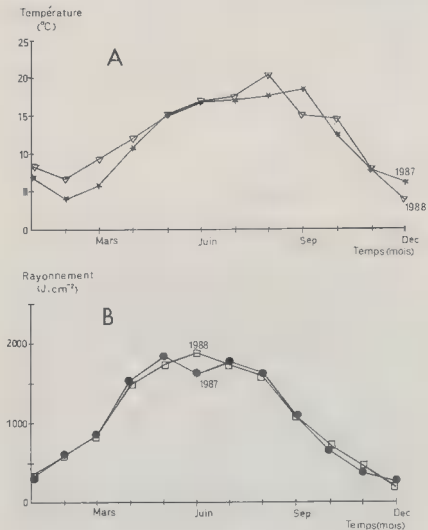


Figure 4 - A: Températures mensuelles moyennes au cours des années 1987 et 1988.
B: Rayonnement global mensuel moyen au cours des années 1987 et 1988.

ne se développe jamais (c'est le cas de la diatomée *Coscinodiscus wailesii* Gran et Angst).

Evolution des facteurs environnementaux

L'évolution saisonnière des températures est globalement identique en 1987 et en 1988 avec des valeurs qui s'échelonnent de -2°C en février à $+28^{\circ}\text{C}$ en août (figure 4A).

Cependant, les températures moyennes relevées de janvier à mars 88 (entre $6,6^{\circ}\text{C}$ et $9,3^{\circ}\text{C}$) sont plus élevées que de janvier à mars 87 (entre 4°C et $5,8^{\circ}\text{C}$) et le maximum est enregistré en septembre en 87 ($18,5^{\circ}\text{C}$) et un mois plus tôt en 88 ($20,5^{\circ}\text{C}$).

Le rayonnement global journalier varie de 80 à 2800 $\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ de décembre à juillet, l'évolution des courbes du rayonnement est la même pour les deux années (figure 4B).

La salinité de l'eau de mer évolue entre 24‰ et 30‰ selon la saison; aucune variation brutale due à la pluie n'a été enregistrée. Le pH des cultures varie entre 7 et 9,5 en hiver et entre 8 et 10 en été. La pression partielle en oxygène reste toujours à saturation.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'apport de silice dans les cultures en proportion égale à celle de l'azote favorise manifestement le développement des diatomées par rapport aux autres groupes du phytoplancton.

L'enrichissement en sels nutritifs étant le même durant toute l'année, les importantes variations de biomasse enregistrées dans la composition des peuplements de Diatomophycées produites dans les bassins apparaissent liées à des facteurs saisonniers externes comme les cycles saisonniers du rayonnement lumineux et de la température (figure 5). L'augmentation de biomasse observée dès le mois de janvier est en effet étroitement corrélée au paramètre d'éclairement, à la fois en intensité lumineuse et en durée quotidienne.

Par contre, l'effondrement de la biomasse en automne correspond à la fois à la baisse du rayonnement global et à celle de la température (figure 5), les rôles des facteurs lumière et température étant alors difficilement dissociables (De Pauw *et al.*, 1983).

Il est cependant généralement admis que la température joue un rôle mineur dans la production primaire (Eppley, 1972; Goldman *et al.*, 1976; Regan & Ivanic, 1984); or il semble que certaines fluctuations de la biomasse observées dans nos cultures soient pourtant liées aux variations de la température: ainsi les fortes biomasses obtenues en mars 1988 supérieures à celles obtenues à la même époque en 1987 correspondent à des températures moyennes également nettement plus élevées, les valeurs de rayonnement étant très proches, respectivement $822 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$ et $850 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$. De même en période estivale pour des intensités lumineuses stationnaires aux

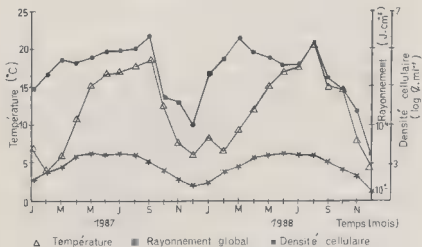


Figure 5 - Evolutions comparées du rayonnement global, de la température et de la biomasse au cours des années 1987 et 1988.

alentours de 1600 à 1700 J.cm⁻², les densités cellulaires maximales coïncident exactement avec les températures maximales.

L'observation des espèces constitutives des cultures montre qu'aux variations saisonnières de la biomasse des diatomées se superposent des changements de composition spécifique des populations. Ces derniers, liés à la dynamique de succession des espèces en mer (figure 3), évoluent sous l'action déterminante de la température (Goldman *et al.*, 1980).

L'espèce *Skeletonema costatum*, connue pour provoquer d'importantes floraisons en mer (Bonin *et al.*, 1986), est présente toute l'année dans les eaux littorales du Calvados en quantité peu abondante. Elle atteint par contre de fortes densités cellulaires dans les bassins de culture, pouvant entraîner d'importantes variations de biomasse entre deux années pour une même période, comme c'est le cas en mars 88 et mars 87. Ainsi en mars 1987, les températures basses et les intensités lumineuses faibles favorisent, comme l'ont observé Durbin (1974) ainsi que Grall & Jacques (1964), la croissance de *Thalassiosira nordenskiöldii* au détriment de *Skeletonema costatum*, qui doit attendre de meilleures conditions (Yoder, 1979) pour se développer, d'où la succession constatée entre ces deux espèces. Par contre, en mars 88, en raison des températures plus élevées qu'en 1987, la croissance de *Thalassiosira* se trouve réduite, permettant de ce fait l'installation et le développement concomittant de *Skeletonema*. En conséquence, par la présence de ces deux espèces, les biomasses relevées en mars 88 sont supérieures à celles relevées en mars 1987.

Chaetoceros sociale fait partie des espèces communes dans les zones tempérées en période de réchauffement de la température (Guillard &

Kilham, 1977). Nous l'avons en effet observée dans les cultures dès le mois de juin et en mer pendant tout l'été.

Les biomasses estivales maximales correspondant aux températures maximales sont le fait de la diatomée *Nitzschia closterium*. *Phaeodactylum tricorutum*, bien que n'ayant jamais été observée dans nos relevés de plancton en mer, est cependant présente dans les bassins durant une grande partie de l'année. Mais cette espèce, pourtant connue pour sa capacité à dominer dans les cultures de populations naturelles (Bonin *et al.*, 1986; Goldman, 1977), ne se développe dans les bassins qu'à des températures comprises entre 15°C et 20°C, et ce, soit suite à l'effondrement d'un bloom de diatomées, soit dans une culture non enrichie en silice; c'est-à-dire dans des conditions d'absence de compétition.

Les observations de Goldman & Ryther (1976) montrant la capacité de cette espèce à dominer d'autres diatomées à taux de division rapide comme *Skeletonema costatum* à des températures comprises entre 15°C et 20°C semblent en désaccord avec cette observation. Cependant, l'utilisation d'un rapport N/Si faible favorable à la diatomée *Skeletonema costatum* (De Pauw *et al.*, 1983) explique en partie la dominance de cette dernière sur *Phaeodactylum*, même à des températures supérieures à 10°C (mois de mai) et les taux de division relativement faibles observés pour une espèce de petite taille comme *Phaeodactylum* (Bonin *et al.*, 1986), concourent également à expliquer qu'elle ne réussisse à dominer qu'en l'absence de compétition avec une autre diatomée à taux de multiplication rapide.

Les espèces de petite taille à taux de croissance élevé (*Thalassiostra nordenskiöldii*) se développent donc en premier, comme dans le milieu marin (Lebour, 1930; Hendey, 1964). Elles demeurent par contre prépondérantes dans les bassins tant que les conditions du milieu leur sont favorables, empêchant le développement des espèces à croissance plus lente, contrairement à ce qui est observé en mer où s'imposent divers *Chaetoceros* et *Coscinodiscus*.

Il semble donc qu'en bassins, l'absence de stratification des couches d'eau, l'absence de prédateurs phytophages et la présence continue de sels nutritifs en quantités non limitantes favorisent essentiellement ces espèces caractéristiques des premières étapes des successions phytoplanktoniques en mer (Guillard & Kilham, 1977).

Nous avons donc établi que le développement de populations phytoplanktoniques naturelles en bassin extérieurs est directement lié à la dynamique de succession des espèces en mer. Mais alors qu'en milieu naturel la compétition est régie par la conjugaison de nombreux facteurs (prédation, épuisement des sels nutritifs, stratification des couches d'eau, ...), en bassins, où l'apport en nutriments est constant, les phénomènes de compétition sont essentiellement régis par les facteurs climatiques, les variations du rapport N/Si/P et sans doute les phénomènes d'inhibition interspécifiques dûs au relargage de substances organiques. Les espèces initiatrices des floraisons en mer, qui se succèdent dans les cultures, continuent à se multiplier dans les bassins tant que les facteurs climatiques leur sont favorables. La température constitue à cet égard un facteur primordial dans la

régulation des successions d'espèces en culture, la lumière agissant principalement en tant que facteur limitant sur le développement de la biomasse.

Le cycle annuel de la température et la dynamique de succession des espèces en mer étant des phénomènes stables d'une année sur l'autre pour une région donnée, il est alors permis, dans les conditions expérimentales utilisées, d'extrapoler ces résultats à une durée supérieure à ces deux années.

REMERCIEMENTS: les auteurs remercient le Prof. J.M. Robert pour ses suggestions très appréciées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AARONSON S., BERNER T. & DUBINSKY Z., 1980 - Microalgae as a source of chemical and natural products. In SHLEIF G. & SOEDER C.J. (Eds.), *Algae biomass*. Elsevier, pp. 575-601.
- BONIN D.J., DROOP M.R., MAESTRINI S.Y. & BONIN M.C., 1986 - Physiological features of six microalgae to be used as indicators of seawater quality. *Cryptogamie, Algol.* 7(1): 23-83.
- COSSON J., 1987 - Croissance des sporophytes résultant d'hybridations interspécifiques et intergénériques chez les Laminariales. *Cryptogamie, Algol.* 8(1): 61-72.
- DE PAUW N., VERBOVEN J. & CLAUS C., 1983 - Large-scale microalgae production for nursery rearing of marine bivalves. *Aquacultural Engineering* 2: 27-47.
- DURBIN E.G., 1974 - Studies on the autecology of the marine diatom *Thalassiosira nordenskiöldii* Cleve. The influence of daylength, light intensity, and temperature on growth. *J. Phycol.* 10: 220-225.
- EPPLEY R.W., 1972 - Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fish. Bull. Fish. Wildl. Serv. U.S.* 70: 1063-1085.
- GOLDMAN J.C., 1977 - Biomass production in mass cultures of marine phytoplankton at varying temperatures. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 27: 161-169.
- GOLDMAN J.C. & MANN R., 1980 - Temperature-influenced variations in speciation and chemical composition of marine phytoplankton in outdoor mass cultures. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 46: 29-39.
- GOLDMAN J.C. & RYTHER J.H., 1976 - Temperature-influenced species competition in mass cultures of marine phytoplankton. *Biotechnology and Bioengineering* 23: 1125-1144.
- GRALL J.R. & JACQUES G., 1964 - Etude dynamique et variations saisonnières du plancton de la région de Roscoff. *Cah. Biol. Mar.* 5: 423-455.
- GUERIN-ANCEY O., MAESTRINI S.Y. & BEKER L., 1978 - Utilisation d'engrais agricoles comme source de nutrilites pour la culture massive de quelques algues marines. Congrès ECOTRON, C.O.B., Brest, *Publ. Sci. Tech. CNEOX: Actes Colloque* 7: 285-304.
- GUILLARD R.L. & KILHAM P., 1977 - The ecology of marine planktonic diatoms. In WERNER D. (Ed.), *The biology of diatoms*, 12, pp. 373-469.

- HENDEY I., 1964 - *An introductory account of the smaller algae of British coastal waters. Part V. Bacillariophyceae (diatoms)*. Ed. London: Her Majesty's stationery office.
- LEBOUR M.V., 1930 - *The planktonic diatoms of Northern seas*. Ed. Ray Society, Volume 116 of the series, London.
- OFFICER C.B. & RYTHER J.H., 1980 - The possible importance of silicon in marine eutrophication. *Marine Ecology*, 3: 83-91.
- PERSOONE G. & CLAUS C., 1980 - Mass culture of algae: a bottleneck in the nursery of mollusc. In SHELEF G. & SOEDER C.J. (Eds.), *Algae biomass*. Elsevier, pp. 265-285.
- REGAN D.L. & IVANCIC N., 1984 - Mixed populations of marine microalgae in continuous culture: factors affecting species dominance and biomass productivity. *Biotechnology and Bioengineering* 26: 1265-1271.
- RIVA A. & LELONG P., 1981 - Growth of juvenile bivalve molluscs associated with continuous cultures of natural marine phytoplankton. In CLAUS C., DE PAUW N. & JASPERS E. (Eds.), *Nursery culturing of bivalve molluscs*, 7, pp. 253-268.
- YODER J.A., 1979 - Effect of temperature on light-limited growth and chemical composition of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* 15: 362-370.